HEMOCHRON®

Whole Blood Coagulation Systems

Protamine Dose Assay (PDAO)

Package Insert

English

INTENDED USE

The HEMOCHRON® PDAO is designed for in vitro diagnostic protamine dose determination. The PDAO is intended for use in the verification of heparin neutralization at the completion of cardiovascular surgery. The kaolin-activated PDAO assay may also be used for patients receiving aprotinin. The HEMOCHRON PDAO should be used with established HEMOCHRON procedural guidelines with HEMOCHRON models 401, 801, 8000 and Response.

For *in vitro* Diagnostic Use

SUMMARY AND EXPLANATION

The amount of protamine sulfate required to neutralize heparin after cardiovascular surgery is commonly based on a ratio of protamine to the amount of heparin infused during the procedure[1-3] or based on protamine titration.[3-5] Accurate determination of protamine dose is advantageous in view of the known complications associated with excess or insufficient protamine.[6-8]

Because of the pharmacokinetics of protamine, it is important to quantify and administer the correct protamine dosage required to neutralize the residual, circulating heparin.[9] Too low a dose may result in heparin-related bleeding and may require an additional protamine infusion to fully reverse the heparin effect.[8, 9] Too high a dose of protamine, a more common occurrence, may result in bleeding due to the anticoagulant properties of protamine when not bound to the heparin molecule.[9] Infusion of excess protamine may also result in severe hypotension, anaphylactic shock, pulmonary vasoconstriction, and cardiac decompensation.[6-9]

The purpose of protamine titration is to determine the exact protamine dosage required to completely neutralize circulating heparin in any given patient. Protamine neutralization of heparin in vitro results in normalization of the clotting time in a manner which correlates with the in vivo effects of the drug.[3, 5]

Protamine Dose Assay-O

The PDAO provides a convenient method for protamine titration using the principles of in vitro dose-response heparin neutralization and verification of heparin neutralization.[12] Titration analysis performed using PDAO quantifies the milligrams of protamine per milliliter of patient blood necessary to neutralize the patient's residual heparin load and return the Activated Clotting Time (ACT) to the preheparinized baseline value.

The PDAO test is available with either Celite® (diatomaceous earth) or kaolin activators. The Celite activated PDAO test is not intended for use with the protease inhibitor aprotinin (Trasylol®, Bayer Corporation), which may be administered to reduce post-operative bleeding, especially during cardiopulmonary bypass surgery, and can prolong the Celite activated PDAO. Kaolin is unaffected by moderate doses of aprotinin. The kaolin-activated PDAO can be used as an alternative for protamine dose response evaluation in patients receiving aprotinin. The post-surgical patient should be monitored with the ACT and PDAO to determine the need to infuse additional protamine to compensate for latent heparin effect, which may possibly result in heparin rebound.[13]

The PDAO test is performed using HEMOCHRON whole blood coagulation models 401, 801, 8000 or Response. The PDAO contains the reagents required to perform an ACT test plus an appropriate amount of protamine sulfate to identify the presence of residual heparin and determine an appropriate dose (if any) for neutralization.

In 1975, Bull et al.[5] published the dose-response curve method, based on the ACT test,[11] to individualize heparin and protamine dosages. In 1983, Dutton et al.[4] described a method of protamine titration using the HEMOCHRON 400 system. In this method, varying amounts of liquid protamine are added to samples of the patient's heparinized blood, and the ACT is determined for each sample. ACT results plotted against in vitro protamine concentration constitute a dose-response heparin neutralization curve. The exact protamine concentration required to normalize the ACT to its level prior to heparinization may be calculated from such a curve.

The PDAO uses patient whole blood in conjunction with a status ACT to construct an individualized protamine titration curve. The protamine dose is calculated based on these clotting times and the patient's blood volume. This can be calculated automatically by the HEMOCHRON Response (software version 2.0 or higher) or 8000, or manually using the worksheet provided.

REAGENTS

The HEMOCHRON PDAO test tubes are intended for use with fresh whole blood. The test tubes contain a lyophilized preparation of protamine sulfate with added activator, stabilizers and buffers.

- PDAO contains protamine sulfate (0.01mg), diatomaceous earth, stabilizers and buffers.
- PDAOK contains protamine sulfate (0.01mg), kaolin, stabilizers and buffers.

STORAGE & STABILITY

The HEMOCHRON PDAO test tubes should be stored at controlled room temperature (15-30°C). The PDAO tubes are stable until the marked expiration date. Avoid prolonged exposure of the PDAO kits to temperatures exceeding 30°C.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Materials Provided

- PDAO test tube (orange-top; Celite or kaolin-activated as appropriate).
- PDAO worksheet (for manual calculations, if required).

Materials Required

- HEMOCHRON Response, 8000, 801 or two 401s.
- Non-siliconized, non-heparinized 5 mL syringes for blood collection.
- #20 gauge or larger straight needle for transfer of the blood specimen into the test tube.
- ACT test tube, FTCA510 (black top) or FTK-ACT (gold top), as appropriate.

CAUTION: *Every precaution should be taken to use proper technique with syringes to avoid a mLidental needlesticks.*

For blood collection, adhere to the appropriate technique (A or B):

A. -Indwelling venous or arterial blood line. (Do not obtain blood from a heparinized access line or indwelling heparin lock.)
   1. Discontinue fluids drip, if required.
   2. Using a two syringe technique, draw two 5 mL syringes and discard the first syringe.

B. Extracorporeal blood line port.
   1. Flush the extracorporeal blood access line by withdrawing and discarding 5 mL of blood.
   2. Draw 5 mL whole blood into a 5 mL syringe.

TEST PROCEDURE

If using the HEMOCHRON Response (software version 2.0 or higher) or 8000, the system software will quantify the protamine dose (if any) based on the PDAO test result and information provided by the user, along with the status ACT results. If using the HEMOCHRON Response (software versions below 2.0), 401 or 801, use the PDAO calculation worksheet provided with the test kit to calculate the protamine dose.

If using the Celite-activated PDAO, an FTCA510 (black top) ACT should be used. If using the kaolin-activated PDAO, an FTK-ACT (gold top) should be used.

Recommended Protocol

1. Five minutes following initial protamine infusion, simultaneously perform a status ACT and a PDAO. From the collection syringe, dispense exactly 2.0 mL of blood into the PDAO test tube. At the same time, depress the **START** button of the appropriate HEMOCHRON test well.
2. Immediately agitate the test tube vigorously from end to end ten times.
3. Insert the PDAO test tube into the appropriate test well. Quickly rotate the tube clockwise. See the appropriate instrument operator manual for additional information.
4. From the same collection syringe, dispense exactly 2.0 mL of blood into the ACT tube. At the same time, depress the **START** button of the appropriate HEMOCHRON test well.
5. Immediately agitate the test tube vigorously from end to end ten times.
6. Insert the ACT test tube into the appropriate HEMOCHRON test well. Quickly rotate the tube clockwise. See the appropriate instrument operator manual for additional information.
7. At the indicator tone, record the test result.
8. Determine the protamine infusion dose. See Dose Calculations below.

Dose Calculations

If using the HEMOCHRON Response (software version 2.0 or higher), refer to the HEMOCHRON Response RxDx Operator Manual for detailed instructions on the use of this automated calculation system. If using the HEMOCHRON 8000, follow instructions in this instrument's operator manual. If using the HEMOCHRON Response with software versions below 2.0, HEMOCHRON 401 or 801, follow instructions on the PDAO worksheet provided in this kit to calculate the protamine dose.

Verification of heparin neutralization

Residual heparin is indicated by an ACT result more than 10% higher than the concommitant PDAO result. A PDAO result which is higher than the corresponding ACT also indicates complete neutralization of circulating heparin.

PRODUCT USE WARNING

NOTE: *Observe universal precautions at all times.*

1. The blood specimen should be transferred using an appropriate transfer needle to pierce the stopper.
2. Always use a two-hand technique to transfer blood. One hand securely holds the tube while the second hand dispenses the blood specimen from the syringe.
3. PDAO test tubes are made of glass. They can be broken or cracked if mishandled. Do not drop or toss tubes.
4. The PDAO test tubes contain a particulate activator (Celite or kaolin) as well as a material of biological origin (protamine sulfate). Do not handle the material, aerosol or ingest.
5. All used test tubes containing human derived blood should be discarded in approved biohazard containers.
6. Do not remove stoppers to deliver a blood sample to the tube.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The PDA was shown in laboratory and clinical studies to detect residual heparin above 0.25 units/ml and to quantify additional minidoses of protamine (as low as 25 mg) required to obtain complete heparin neutralization.[12]

Precision

Reproducibility was determined using HEMOCHRON Quality Control for PDAO.

	Level 1				Level 2			
PDAO	**Day 1**	**Day 2**	**Day 3**	**Combined**	**Day 1**	**Day 2**	**Day 3**	**Combined**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Mean	126	126	121	124	331	330	345	335
Std dev	3.5	3.1	3.2	3.6	0	4.0	13.2	10.0
CV%	2.7	2.4	2.6	2.9	0	1.2	3.8	3.0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Mean	122	134	126	128	391	405	403	399
Std dev	9.7	3.9	10.6	9.4	13.3	13.9	15.7	14.6
CV%	7.9	2.9	8.4	7.4	3.4	3.4	3.9	3.7

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The PDAO test is affected by poor technique in the test procedure. Proper specimen/reagent mixing is required for precise and accurate testing.
2. The accuracy of the protamine dose prediction is dependent upon the accuracy of the patient's calculated blood volume. In some instances, blood volume changes during surgery may be dramatic due to excessive intravenous-fluid infusion, urinary loss, blood loss, and blood component transfusion. As with any medication by infusion, the user must be aware of these alterations because of their potential effects on the efficacy of the protamine infusion.
3. The use of additional heparin or heparinized blood products (i.e., salvaged red blood cells from the extracorporeal system) following the performance of the PDAO will negate the test results and protamine prediction. In this circumstance, the PDAO assay should be repeated to reflect the additional protamine requirements.
4. Only kaolin-activated PDAO tubes should be used for patients receiving aprotinin. Studies have not been performed utilizing other antifibrinolytic agents.
5. The PDAO test is not intended for use when the status ACT exceeds 300 seconds.
6. Test results which do not agree with expected values should be verified and thereafter evaluated by alternative diagnostic methods.

QUALITY CONTROL (QC)

Routine quality control testing and tracking should be a part of a comprehensive quality assurance program. HEMOCHRON Whole Blood Coagulation System Quality Control products are available to make routine QC convenient and affordable.

Daily QC of the Instrument

HEMOCHRON instruments should be quality controlled at two levels of control once every 8 hours of operation. To assist in accomplishing daily QC, Electronic System Verification Tubes are available and can provide multiple level (normal and abnormal) quality control checks on the instrument. A Temperature Verification Tube is also provided for use every 6 months to verify that the instrument is maintaining the proper temperature 37°C ± 1°C. Any errors found in the temperature controls system will also be displayed on the LCD screen by the instrument.

QC of HEMOCHRON Test Tubes

Each box of HEMOCHRON test tubes should be validated at least once prior to use. This can be accomplished by using the appropriate HEMOCHRON Liquid Quality Control. Acceptable performance ranges for the test tubes are included with each HEMOCHRON Quality Control Product Kit. After each individual box of test tubes has been verified, the "Performance Verified" table provided on the side panel of each test tube box should be completed. This box is now "IN CONTROL" and will not require further liquid quality control unless a shift in clinical results is experienced.

NOTE: *If multiple boxes are received within the same shipment, it is recommended to validate each box prior to use.*

REFERENCES

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

	L1	L2	X̄	r
EN	Level 1	Level 2	Mean	Range
DE	Level 1	Level 2	Durchschnitt	Bereich
FR	Niveau 1	Niveau 2	Moyenne	Plage
IT	Livello 1	Livello 2	Media	Intervallo
ES	Nivel 1	Nivel 2	Media	Intervalo
PT	Nível 1	Nivel 2	Média	Limite

HEMOCHRON® and RxDx® are registered trademarks of ITC.
Celite® is a registered trademark of Celite Corp.
Trasylol® is a registered trademark of Bayer Corp.

ITC
8 Olsen Avenue • Edison, NJ 08820 USA
tel: 732 548 5700 • fax: 732 248 1928
www itcmed com
a subsidiary of Thoratec Corporation

RX4061 9/05

HEMOCHRON®

Whole Blood Coagulation Systems

Protamindosis-Assay
Protamine Dose Assay (PDAO)

Packungsbeilage

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

Der HEMOCHRON® PDAO ist zur diagnostischen In-vitro-Protamindosisbestimmung vorgesehen. Der PDAO ist zur Überprüfung der Heparinneutralisierung nach Beendigung kardiovaskulärer Eingriffe vorgesehen. Die Kaolin-aktivierten PDAO-Assays können auch bei Aprotinin erhaltenden Patienten eingesetzt werden. Der HEMOCHRON PDAO sollte anhand etablierter HEMOCHRON Verfahrensrichtlinien mit den HEMOCHRON Modellen 401, 801, 8000 und Response eingesetzt werden.

Zur *In-vitro*-Diagnose

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die zur Neutralisierung des Heparins nach kardiovaskulären Eingriffen notwendige Protaminsulfatdosis basiert üblicherweise auf dem Verhältnis zwischen Protamin und der während des Eingriffs verabreichten Heparinmenge[1-3] oder auf einer Protamintitrierung.[3-5] Eine genaue Bestimmung der Protamindosis ist aufgrund der bekannten Komplikationen im Zusammenhang mit übermäßigem oder ungenügendem Protamin von Vorteil.[6-8]

Aufgrund der pharmakokinetischen Merkmale des Protamins ist es wichtig, die korrekte Protamindosis zu bestimmen und zu verabreichen, um das restliche im Blutkreislauf befindliche Heparin zu neutralisieren.[9] Zu geringe Dosen können eine heparinbedingte Blutung verursachen und zusätzliche Protaminverabreichung zur völligen Aufhebung des Heparineffekts notwendig machen.[8, 9] Zu hohe Protamindosen, die öfter auftreten, können zu Blutungen aufgrund der Antikoagulationseigenschaften des Protamins führen, wenn dies nicht an das Heparinmolekül gebunden ist.[9] Eine exzessive Protaminzufuhr kann auch zu schwerer Hypotonie, anaphylaktischem Schock, Verengung der Lungenblutgefäße und Herzdekompensation führen.[6-9]

Zweck der Protamintitrierung ist die Bestimmung der genauen Protamindosis zur vollständigen Neutralisierung des im Kreislauf befindlichen Heparins bei jedem einzelnen Patienten. Die Protaminneutralisation des Heparins in vitro führt zu einer Normalisierung der Gerinnungszeit entsprechend der In-vivo-Wirkungsweise des Medikaments.[3, 5]

Protamine Dose Assay-O

Der PDAO-Test bietet eine bequeme Methode der Titrierung von Protamin unter Anwendung der Prinzipien der dosisbezogenen In-vitro-Heparinneutralisierung und Überprüfung der Heparinneutralisierung.[12] Diemit dem PDAO durchgeführte Titrieranalyse quantifiziert die Milligrammmenge Protamin pro Milliliter Patientenblut, die zur Neutralisierung des restlichen Heparins führt und die Activated Clotting Time (ACT) auf den Ausgangswert vor der Heparinisierung zurückführt.

Der PDAO-Test ist mit Celite® (Kieselgur) oder Kaolin-Aktivatoren erhältlich. Der Celite-aktivierte PDAO-Test ist nicht zur Verwendung mit dem Protease-Inhibitor Aprotinin (Trasylol®, Bayer Corporation) vorgesehen, welcher zur Reduktion postoperativer Blutungen, speziell bei kardiopulmonalen Bypasseingriffen, verabreicht werden und den Celite-aktivierten PDAO verlängern kann. Kaolin wird durch moderate Mengen Aprotinin nicht beeinflusst. DerKaolin-aktivierte PDAO kann als Alternative für die Protamindosis-Reaktionsbewertung bei Patienten mit Aprotiningabe verwendet werden. Beim postoperativen Patienten sollten ACT und PDAO überwacht werden, um den Bedarf an zusätzlichen Protamingaben zur Kompensierung der latenten Heparinwirkung, die möglicherweise zu einem Heparinanstieg führen kann, zu bestimmen.[13]

Der PDAO-Test wird auf HEMOCHRON Vollblut-Koagulationsgeräten, Modell 401, 801, 8000 oder Response, durchgeführt. Der PDAO enthält die Reagenzien, um einen ACT-Test durchzuführen, außerdem die entsprechende Menge Protaminsulfat, um die Präsenz von restlichem Heparin festzustellen und ggf. die entsprechende Dosis zur Neutralisation zu bestimmen.

Im Jahr 1975 veröffentlichten Bull et al.5 die Methode der Dosisreaktionskurve, basierend auf dem ACT-Test11 zur individuellen Bestimmung der Heparin- und Protamin-Dosierung. 1983 beschrieben Dutton et al.4 eine Methode der Titrierung von Protamin unter Verwendung des HEMOCHRON 400 Systems. Bei dieser Methode werden unterschiedliche Mengen flüssigen Protamins zu den heparinisierten Blutproben gegeben, und das ACT wird jeweils für jede Probe bestimmt. Die ACT-Ergebnisse dargestellt im Verhältnis zur In-vitro-Protaminkonzentration ergeben eine Dosisreaktions-Heparinneutralisierungskurve. Die genaue benötigte Protaminkonzentration zur Normalisierung des ACT auf das Niveau vor der Heparinisierung kann aus einer solchen Kurve abgeleitet werden.

Der PDAO-Test verwendet Vollblut vom Patienten in Verbindung mit einem Status-ACT, um eine individuelle Protamin-Titrierkurve zu bilden. Die Protamindosis wird aufgrund dieser Gerinnungszeiten und des Blutvolumens des Patienten berechnet. Dies kann automatisch mit dem HEMOCHRON Response (Softwareversion 2.0 oder höher) oder 8000 oder manuell mit dem beigefügten Arbeitsblatt berechnet werden.

REAGENZIEN

Die HEMOCHRON PDAO-Teströhrchen sind zur Verwendung mit frischem Vollblut vorgesehen. Die Teströhrchen enthalten ein gefriergetrocknetes Präparat aus Protaminsulfat und hinzugefügtem Aktivator, Stabilisatoren und Puffer.

- Jedes PDAO-Röhrchen (orangefarbener Verschluss) enthält Protaminsulfat (0,01 mg), Kieselgur, Stabilisatoren und Puffer.
- Jedes PDAOK-Röhrchen (organgefarbener Verschluss) enthält Protaminsulfat (0,01 mg), Kaolin, Stabilisatoren und Puffer.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die HEMOCHRON PDAO-Teströhrchen sollten bei kontrollierter Raumtemperatur (15–30°C) gelagert werden. Die PDAO-Röhrchen sind bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die PDAO-Kits sollten nicht längere Zeit Temperaturen über 30°Causgesetzt werden.

PROBENGEWINNUNG UND HANDHABUNG

Geliefertes Material

- PDAO-Teströhrchen (orangefarbener Verschluss; entweder Celite- oder Kaolin-aktiviert).
- PDAO-Arbeitsblatt (ggf. für manuelle Berechnungen).

Notwendiges Material

- HEMOCHRON Response, 8000, 801 oder zwei 401s
- Nicht silikonisierte, nicht heparinisierte 5-ml-Spritzen zur Blutprobenentnahme
- Gerade Nadel (20 Gauge oder größer) zum Transfer der Blutprobe in das Teströhrchen
- ACT-Teströhrchen, FTCA510 (schwarzer Verschluss) oder FTK-ACT (goldener Verschluss)

VORSICHT: *Zur Vermeidung von versehentlichen Nadelstichen sind alle Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung der Spritze zu ergreifen.*

Zur Probenentnahme eine der folgenden Techniken (A oder B) anwenden:

A. Dauerkanüle, venös oder arteriell (Kein Blut aus einer heparinisierten Zugangsleitung oder Dauerheparinblock entnehmen.)
   1. Das Eintropfen der Flüssigkeit ggf. unterbrechen.
   2. Mit der Zweispritzentechnik zwei 5-ml-Spritzen aufziehen und den Inhalt der ersten Spritze entsorgen.

B. Extrakorporaler Blutgefäßzugang
   1. Den extrakorporalen Zugang durch Entnahme und Entsorgung von 5 ml Blut durchspülen.
   2. 5ml Vollblut mit einer 5-ml-Spritze aufziehen.

TESTVERFAHREN

Beim Einsatz eines HEMOCHRON Response (Softwareversion 2.0 oder höher) oder eines 8000 bestimmt die Software die Protamindosis (falls erforderlich), basierend auf den PDAO-Testergebnissen und den vom Anwender eingegebenen Daten zusammen mit den Ergebnissen des Status-ACT. Beim Einsatz eines HEMOCHRON Response (Softwareversionen unter 2.0) 401 oder 801 zur Berechnung der Protamindosis das mit dem Testkit gelieferte PDAO-Berechnungsblatt verwenden.

Beim Einsatz des Celite-aktivierten PDAO ist ein FTCA510 (schwarzer Verschluss) ACT-Röhrchen zu verwenden. Beim Einsatz von Kaolin-aktiviertem PDAO ist ein FTK-ACT-Röhrchen (goldener Verschluss) zu verwenden.

Empfohlenes Vorgehen

1. Fünf Minuten nach der ersten Protamingabe gleichzeitig einen Status-ACT und einen PDAO durchführen. Genau 2,0 ml Blut aus der Blutabnahmespritze in das PDAO-Teströhrchen geben. Gleichzeitig die **START**-Taste des entsprechenden HEMOCHRON-Prüfschachtes drücken.
2. Sofort das Teströhrchen zehn Mal kräftig durchschütteln.
3. Das PDAO-Teströhrchen in den entsprechenden Schacht einführen. Das Röhrchen schnell im Uhrzeigersinn drehen. Weiterführende Informationen siehe Handbuch des jeweiligen Gerätes.
4. Genau 2,0 ml Blut aus derselben Blutabnahmespritze in das ACT-Teströhrchen geben. Gleichzeitig die **START**-Taste des entsprechenden HEMOCHRON-Prüfschachtes drücken.
5. Sofort das Teströhrchen zehn Mal kräftig durchschütteln.
6. Das ACT-Teströhrchen in den entsprechenden HEMOCHRON-Prüfschacht einführen. Das Röhrchen schnell im Uhrzeigersinn drehen. Weiterführende Informationen siehe Handbuch des jeweiligen Gerätes.
7. Beim akustischen Signal das Ergebnis protokollieren.
8. Die Protamininfusionsdosis bestimmen. Siehe Dosisberechnung weiter unten.

Dosisberechnungen

Beim Einsatz eines HEMOCHRON Response (Softwareversion 2.0 oder höher) siehe das Benutzerhandbuch für das HEMOCHRON Response RxDx für ausführliche Anweisungen zur Verwendung des automatischen Berechnungssystems. Beim Einsatz eines HEMOCHRON 8000 siehe Anweisungen des Benutzerhandbuchs für dieses Gerät. Beim Einsatz eines HEMOCHRON Response mit Softwareversionen unter 2.0 HEMOCHRON 401 oder 801 siehe Anweisungen auf dem mit dem vorliegendem Kit gelieferten PDAO-Arbeitsblatt zur Berechnung der Protamindosis.

Überprüfung der Heparinneutralisierung

Restliches Heparin wird durch ein mehr als 10% höheres ACT-Ergebnis im Vergleich zum gleichzeitigen PDAO-Ergebnis angezeigt. Ein PDAO-Ergebnis, welches über dem entsprechenden ACT-Wert liegt, weist auf die vollständige Neutralisierung des Heparins im Blutkreislauf hin.

WARNUNGEN ZUR ANWENDUNG

HINWEIS: *Stets umfassende Vorsichtsmaßnahmen ergreifen.*

1. Der Blutprobentransfer sollte mit einer geeigneten Transfernadel zum Durchstechen des Gummistopfens erfolgen.
2. Beim Bluttransfer stets die Zweihandtechnik anwenden. Mit einer Hand wird das Röhrchen festgehalten, während mit der anderen Hand die Blutprobe aus der Spritze eingefüllt wird.
3. PDAO-Teströhrchen sind aus Glas. Bei falscher Handhabung können sie zerbrechen. Röhrchen nicht fallen lassen oder werfen.
4. Die PDAO-Teströhrchen enthalten einen Aktivator (Celite oder Kaolin) sowie Material biologischer Herkunft (Protaminsulfat). Material nicht berühren, einatmen oder verschlucken.
5. Alle gebrauchten Teströhrchen, die menschliches Blut enthalten, müssen in zugelassenen Behältern für Biogefahrstoffe entsorgt werden.
6. Beim Einfüllen der Blutprobe in das Röhrchen nicht den Stopfen entfernen.

LEISTUNGSMERKMALE

In Labor- und klinischen Studien wurde gezeigt, dass der PDA-Test Rest-Heparinwerte über 0,25 Einheiten/ml nachweisen und zusätzliche Kleinstdosen Protamin (25 mg) bestimmen kann, die zur vollständigen Heparinneutralisierung notwendig sind.[12]

Präzision

Die Reproduzierbarkeit wurde unter Verwendung der HEMOCHRON-Qualitätskontrolle für PDAO bestimmt.

	Level 1				Level 2			
PDAO	**Tag 1**	**Tag 2**	**Tag 3**	**Kombiniert**	**Tag 1**	**Tag 2**	**Tag 3**	**Kombiniert**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Durchschnitt	126	126	121	124	331	330	345	335
Standardabweichung	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
VK %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Durchschnitt	122	134	126	128	391	405	403	399
Standardabweichung	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
VK %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

1. Der PDAO-Test wird durch unsachgemäße Handhabung beeinträchtigt. Korrektes Mischen von Blutprobe und Reagenzien ist für eine präzise und exakte Testdurchführung unentbehrlich.
2. Der Genauigkeitsgrad der berechneten Protamindosis ist abhängig von der Genauigkeit der Bestimmung des Blutvolumens des Patienten. Unter einigen Umständen können während des operativen Eingriffs dramatische Änderungen des Blutvolumens stattfinden, z.B. aufgrund übermäßiger intravenöser Infusion, Urinverlust, Blutverlust und Transfusion von Blutkomponenten. Wie bei jeder Medikation durch Infusion muss sich der Anwender dieser Änderungen wegen ihres möglichen Einflusses auf die Wirksamkeit der Protamininfusion bewusst sein.
3. Die Anwendung von zusätzlichem Heparin oder heparinisierten Blutprodukten (d.h. aus dem extrakorporalen System gewonnener roter Blutkörperchen) nach der Durchführung des PDAO macht die Testergebnisse und die Protaminbestimmung ungültig. Unter diesen Umständen sollte der PDAO-Assay wiederholt werden, um den zusätzlichen Protaminbedarf darzustellen.
4. Die Kaolin-aktivierten PDAO-Röhrchen können auch bei Aprotinin erhaltenden Patienten eingesetzt werden. Studien unter Anwendung anderer antifibrinolytischer Wirkstoffe wurden nicht durchgeführt.
5. Der PDAO-Test ist nicht für Fälle vorgesehen, in denen der Status-ACT-Wert 300 Sekunden überschreitet.
6. Testergebnisse, die nicht mit den erwarteten Werten übereinstimmen, sollten überprüft und anschließend durch alternative diagnostische Mittel bewertet werden.

QUALITÄTSKONTROLLE (QK)

Routinemäßige Qualitätskontrolltests und -protokolle sollten Teil eines umfassenden Qualitätssicherungsprogramms sein. HEMOCHRON-Vollblutkoagulationssystem-Qualitätskontrollprodukte sind verfügbar, um die Routine-Qualitäts sicherungsmaßnahmen bequem und kostengünstig durchführen zu können.

Tägliche QK der Geräte

Die HEMOCHRON-Geräte sollten regelmäßig nach jeweils 8 Betriebsstunden einer zweistufigen Qualitätskontrolle unterzogen werden. Zur Unterstützung der täglichen Qualitätssicherung sind elektronische Systemüberprüfungsrö hrchen erhältlich, die mehrstufige (normal und abnormal) Qualitätskontrollen des Gerätes bieten. Zusätzlich wird ein Temperaturkontrollröhrchen bereitgestellt, mit dem alle 6 Monate überprüft werden sollte, ob das Gerät die richtige Temperatur von 37°C ± 1°C aufrechterhält. Alle im Temperaturkontrollsystem festgestellten Fehler werden außerdem in der LCD-Anzeige des Geräts angezeigt.

QK der HEMOCHRON-Teströhrchen

Jede Schachtel HEMOCHRON-Teströhrchen sollte mindestens einmal vor der Anwendung auf ihre Gültigkeit überprüft werden. Dies kann unter Verwendung der entsprechenden flüssigen Qualitätskontrolle von HEMOCHRON erfolgen. Die zulässigen Wertebereiche für die Teströhrchen sind im HEMOCHRON-Qualitätskontrollprodukt-Kit angegeben. Nachdem jede einzelne Schachtel Teströhrchen überprüft wurde, sollte die auf der Seite der Schachtel befindliche Tabelle mit dem Titel „Performance Verified" (Leistung verifiziert) entsprechend ausgefüllt werden. Diese Schachtel ist jetzt „IN CONTROL" (KONTROLLIERT) und muss keiner weiteren Qualitätskontrolle mehr unterzogen werden, bis eine Verschiebung der klinischen Ergebnisse beobachtet wird.

HINWEIS: *Wenn in einer Lieferung mehrere Schachteln erhalten werden, ist es ratsam, jede Schachtel vor ihrer Verwendung zu überprüfen.*

LITERATURHINWEISE

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®

Whole Blood Coagulation Systems

Ensayo de dosis de protamina
Protamine Dose Assay (PDAO)

Prospecto

Español

APLICACIÓN

El HEMOCHRON® PDAO se utiliza para el diagnóstico in vitro de la determinación de la dosis de protamina. PDAO se utiliza para verificar la neutralización de la heparina al final de la cirugía cardiovascular. El ensayo de PDAO activado por caolín se puede utilizar también en pacientes que estén recibiendo aprotinina. El HEMOCHRON PDAO se debe utilizar siguiendo las directrices de procedimiento establecidas de HEMOCHRON con los equipos HEMOCHRON modelos 401, 801, 8000 y Response.

Para uso diagnóstico *in vitro*

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La dosis de sulfato de protamina necesaria para neutralizar la heparina después de la cirugía cardiovascular se basa normalmente en una proporción de protamina a la cantidad de heparina infundida durante el procedimiento[1-3] o en la titulación de protamina.[3-5] La determinación exacta de la dosis de protamina resulta favorable en vista de las conocidas complicaciones asociadas con el exceso o escasez de protamina.[6-8]

Debido a la farmacocinética de la protamina, es importante cuantificar y administrar la dosis correcta de protamina necesaria para neutralizar la heparina circulante residual.[9] Una dosis demasiado baja puede ocasionar hemorragia relacionada con la heparina y puede necesitar una infusión adicional de protamina para invertir completamente el efecto de la heparina.[8, 9] Una dosis demasiado alta de protamina, algo que puede ocurrir con más frecuencia, puede ocasionar hemorragia debido a las propiedades anticoagulantes de la protamina cuando no se conjuga con la molécula de la heparina.[9] Una infusión con exceso de protamina puede también producir hipotensión grave, choque anafiláctico, vasoconstricción pulmonar y descompensación cardíaca.[6-9]

La intención de la titulación de protamina es determinar la dosis exacta de protamina necesaria para neutralizar completamente la heparina circulante de cualquier paciente. La neutralización de la heparina causada por protamina in vitro produce la normalización del tiempo de coagulación de forma que se correlaciona con los efectos in vivo del fármaco.[3,-5]

Ensayo O de dosis de protamina

PDAO proporciona un método conveniente para la titulación de protamina usando los principios de neutralización de la heparina por respuesta a la dosis y verificación de la neutralización de la heparina in vitro.[12] El análisis de titulación realizado con PDAO cuantifica los miligramos de protamina por mililitro de la sangre del paciente necesarios para neutralizar la cantidad de heparina residual del paciente y restituir el valor basal preheparinizado del tiempo de coagulación activado (ACT).

La prueba de PDAO está disponible con cualquier activador de caolín o Celite® (tierra de diatomeas). La prueba de PDAO activada por la Celite no se utiliza con la aprotinina inhibidora de la proteasa (Trasylol®, Bayer Corporation), que puede administrarse para reducir la hemorragia postoperatoria, especialmente durante la cirugía de derivación cardiopulmonar y puede prolongar el PDAO activado por Celite. El caolín no se ve afectado por dosis moderadas de aprotinina. El PDAO activado por caolín se puede utilizar como una alternativa para la evaluación de respuesta a la dosis de protamina en pacientes que estén recibiendo aprotinina. El paciente postquirúrgico debe ser vigilado con el ACT y PDAO para determinar la necesidad de infundir más protamina con el fin de compensar el efecto de heparina latente, lo que posiblemente puede provocar un rebote de la heparina.[13]

La prueba de PDAO se realiza con los modelos de coagulación de sangre entera de HEMOCHRON 401, 801, 8000 o Response. El PDAO contiene los reactivos necesarios para realizar una prueba de ACT más una cantidad adecuada de sulfato de protamina con el fin de identificar la presencia de heparina residual y determinar una dosis apropiada (si la hay) para la neutralización.

En 1975, Bull et al.[5] publicaron el método de la curva de respuesta a la dosis, basado en la prueba del ACT,[11] para individualizar las dosis de heparina y protamina. En 1983, Dutton et al.[4] describieron un método de titulación de protamina con el sistema 400 de HEMOCHRON. En este método, se añaden cantidades variables de protamina líquida a muestras de sangre heparinizada del paciente y se determina el ACT para cada muestra. Los resultados de ACT en función de la concentración de protamina in vitro constituyen una curva de neutralización de la heparina de respuesta a la dosis. La concentración exacta de protamina necesaria para normalizar el ACT en su nivel antes de la heparinización se puede calcular a partir de dicha curva.

El PDAO utiliza sangre entera del paciente junto con el ACT de estado para elaborar una curva de titulación de protamina individualizada. La dosis de protamina se calcula basándose en estos tiempos de coagulación y en el volumen sanguíneo del paciente. Esto se puede calcular de forma automática con Response (versión de software 2.0 o superior) u 8000 de HEMOCHRON, o manualmente con la hoja de cálculo proporcionada.

REACTIVOS

Los tubos de ensayo de HEMOCHRON PDAO se utilizan con sangre entera fresca. Los tubos de ensayo contienen una preparación liofilizada de sulfato de protamina con activador, estabilizadores y tampones añadidos.

- Cada tubo de PDAO (tapa anaranjada) contiene sulfato de protamina (0,01mg), tierra de diatomeas, estabilizadores y tampones.
- Cada tubo de PDAOK (tapa anaranjada) contiene sulfato de protamina (0,01mg), caolín, estabilizadores y tampones.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los tubos de ensayo HEMOCHRON PDAO deben almacenarse a temperatura ambiente controlada (15°–30 °C). Los tubos PDAO permanecen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Debe evitarse la exposición prolongada de los kits PDAO a temperaturas superiores a 30 °C.Extracción de muestras y manipulación

EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

Materiales suministrados

- El tubo de ensayo PDAO (con tapa anaranjada; activado por caolín o Celite, según corresponda).
- Hoja de cálculo de PDAO (para cálculos manuales, si es necesario).

Materiales necesarios

- Response, 8000, 801 o dos 401 de HEMOCHRON.
- Jeringuillas de 5 ml no siliconizadas ni heparinizadas para la extracción de sangre.
- Aguja recta N° 20 o más grande para transferir la muestra de sangre al tubo de ensayo.
- Tubo de ensayo de ACT, FTCA510 (tapa negra) o FTK-ACT (tapa dorada), según corresponda.

PRECAUCIÓN: *Se debe tomar todo tipo de precaución para utilizar la técnica correcta con jeringuillas para evitar pinchazos accidentales.*

Para la extracción de sangre, siga la técnica adecuada (A, o B):

A. Línea de sangre arterial o venosa permanente. (No obtenga sangre de una línea de acceso heparinizada ni de un catéter permanente con barrera de heparina.)
   1. Suspenda la administración por goteo de los fluidos, si es necesario.
   2. Con la técnica de dos jeringuillas, saque dos jeringuillas de 5 ml y descarte la primera.

B. Puerto de línea de sangre extracorporal.
   1. Purgue la línea de acceso de sangre extracorporal retirando y descartando 5 ml de sangre.
   2. Saque 5 ml de sangre entera en una jeringuilla de 5 ml.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Si utiliza HEMOCHRON Response (versión de software 2.0 o superior) u 8000, el software del sistema cuantificará la dosis de protamina (si la hay) según el resultado de la prueba PDAO y la información proporcionada por el usuario, junto con los resultados de ACT de estado. Si utiliza HEMOCHRON Response (versiones de software inferiores a 2.0), 401 u 801, haga uso de la hoja de cálculo de PDAO suministrada con el kit de pruebas para calcular la dosis de protamina.

Si utiliza el PDAO activado por Celite, debe utilizar ACT de FTCA510 (tapa negra). Si utiliza PDAO activado por caolín, debe utilizar FTK-ACT (tapa dorada).

Protocolo recomendado

1. Cinco minutos después de la infusión de protamina inicial, realice simultáneamente un ACT de estado y un PDAO. De la jeringuilla de extracción, dispense exactamente 2,0 ml de sangre al tubo de ensayo PDAO. Al mismo tiempo, pulse el botón START del pocillo de ensayo adecuado del HEMOCHRON.
2. Agite inmediatamente el tubo de ensayo vigorosamente de un extremo a otro diez veces.
3. Inserte el tubo PDAO en el pocillo de ensayo adecuado. Gire el tubo rápidamente en el sentido de las agujas del reloj. Para obtener más información, consulte el manual del usuario del analizador adecuado.
4. De la misma jeringuilla de extracción, dispense exactamente 2,0 ml de sangre al tubo de ACT. Al mismo tiempo, pulse el botón START del pocillo de ensayo adecuado del HEMOCHRON.
5. Agite inmediatamente el tubo de ensayo vigorosamente de un extremo a otro diez veces.
6. Inserte el tubo de ACT en el pocillo de ensayo adecuado del HEMOCHRON. Gire el tubo rápidamente en el sentido de las agujas del reloj. Para obtener más información, consulte el manual del usuario del analizador adecuado.
7. Cuando suene el tono indicador, registre el resultado de la prueba.
8. Determine la dosis de infusión de protamina. Consulte a continuación los cálculos de las dosis.

Cálculos de las dosis

Si utiliza HEMOCHRON Response (versión de software 2.0 o superior), consulte el manual del usuario de RxDx del HEMOCHRON Response para obtener instrucciones detalladas sobre el uso de este sistema de cálculo automático. Si utiliza el modelo 8000 del HEMOCHRON, siga las instrucciones del manual del usuario de este analizador. Si utiliza HEMOCHRON Response con versiones de software inferiores a 2.0, HEMOCHRON 401 u 801, siga las instrucciones de la hoja de cálculo de PDAO suministrada con este kit para calcular la dosis de protamina.

Verificación de la neutralización de la heparina

La heparina residual viene indicada por un resultado de ACT en más del 10% superior al resultado de PDAO concomitante. Un resultado de PDAO superior al de ACT correspondiente también indica una neutralización completa de la heparina circulante.

ADVERTENCIA SOBRE LA UTILIZACIÓN DEL PRODUCTO

NOTA: *Observe las precauciones generales en todo momento.*

1. La muestra de sangre se debe transferir con una aguja adecuada para poder penetrar el tapón.
2. Utilice siempre una técnica de dos manos para transferir la sangre. Una mano sostiene el tubo bien asegurado mientras que la otra dispensa la muestra de sangre desde la jeringuilla.
3. Los tubos de ensayo de PDAO están hechos de vidrio. Se pueden romper o resquebrajar si no se tratan con cuidado. No los deje caer ni los tire.
4. Los tubos de ensayo de PDAO contienen un activador en partículas (Celite o caolín) así como material de origen biológico (sulfato de protamina). No manipule, pulverice ni ingiera el material.
5. Todos los tubos de ensayo usados, que contengan sangre humana, se deben desechar en contenedores autorizados para materiales con riesgo biológico.
6. No quite los tapones para entregar un espécimen de sangre al tubo.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

El PDA ha demostrado, en estudios clínicos y de laboratorio, que puede detectar la heparina residual presente en más de 0,25 unidades/ml y cuantificar las minidosis de protamina adicionales (de tan sólo 25 mg) necesarias para obtener la neutralización completa de la heparina.[12]

Precisión

La reproducibilidad se ha determinado con el control de calidad de HEMOCHRON para PDAO.

	Nivel 1				Nivel 2			
PDAO	**Día 1**	**Día 2**	**Día 3**	**Combinado**	**Día 1**	**Día 2**	**Día 3**	**Combinado**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Media	126	126	121	124	331	330	345	335
Desv. est.	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Media	122	134	126	128	391	405	403	399
Desv. est.	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba de PDAO se ve afectada por la técnica deficiente del procedimiento de la prueba. Es necesaria una buena mezcla de especímenes/reactivos para obtener una prueba precisa y exacta.
2. La exactitud del pronóstico de la dosis de protamina depende de la exactitud del volumen sanguíneo calculado del paciente. En algunos casos, los cambios del volumen sanguíneo durante la cirugía pueden ser drásticos debido a la excesiva infusión del fluido intravenoso, la pérdida urinaria y de sangre y la transfusión de componentes sanguíneos. Al igual que con cualquier tratamiento por infusión, el usuario debe tener en cuenta estas alteraciones debido a sus posibles efectos sobre la eficacia de la infusión de protamina.
3. El uso de heparina adicional o de productos de sangre heparinizada (es decir, hematíes rescatados del sistema extracorporal) de acuerdo con el rendimiento del PDAO, invalidará los resultados de la prueba y el pronóstico de la protamina. En este caso, se debe repetir el ensayo de PDAO para reflejar las necesidades adicionales de protamina.
4. Sólo se pueden utilizar los tubos de PDAO activados por caolín en pacientes que estén recibiendo aprotinina. No se han realizado estudios en los que se utilicen otros agentes antifibrinolíticos.
5. La prueba de PDAO no se debe utilizar cuando el ACT de estado supere los 300 segundos.
6. Los resultados de las pruebas que no correspondan con los valores esperados se deben verificar y, a continuación, evaluar mediante métodos de diagnóstico alternativos.

CONTROL DE CALIDAD (CC)

Las pruebas y rastreos rutinarios del control de calidad deben formar parte de un programa de garantía de calidad global. Los productos de control de calidad del sistema de coagulación de sangre entera de HEMOCHRON están disponibles para realizar controles de calidad rutinarios convenientes y asequibles.

CC diario del instrumento

Los analizadores HEMOCHRON deben tener un control de calidad a dos niveles de rendimiento, una vez cada 8 horas de funcionamiento.

Para ayudar a realizar el control de calidad diario, hay tubos de verificación del sistema electrónico que pueden proporcionar comprobaciones del control de calidad de varios niveles (normales y anómalos) en el analizador. También se proporciona un tubo de verificación de temperatura para usar cada 6 meses para verificar que el instrumento mantenga la temperatura apropiada de 37 °C ± 1 °C. Cualquier error hallado en el sistema de controles de la temperatura será exhibido por el instrumento también en la pantalla VCL. .

CC de los tubos de ensayo de HEMOCHRON

Cada caja de tubos de ensayo de HEMOCHRON se debe validar al menos una vez, antes de su uso. Esto se puede realizar utilizando el control de calidad de líquido de HEMOCHRON adecuado. En el kit de control de calidad de HEMOCHRON se incluyen intervalos de rendimiento aceptables para los tubos de ensayo. Después de verificar cada caja individual de tubos de ensayo, se debe completar la tabla suministrada "Performance Verified" (Rendimiento verificado) del panel lateral de cada una. Esta caja está ahora "IN CONTROL" (CONTROLADA) y no necesitará otro control de calidad de líquido a no ser que se produzca un cambio en los resultados clínicos.

NOTA: *Si se reciben varias cajas en la misma remesa, se recomienda validar cada una, antes de su uso.*

REFERENCIAS

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

RX4061-6Langs.indd 1 10/14/2005 8:55:43 AM

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Essai de dosage de la protamine
Protamine Dose Assay (PDAO)

Notice du produit
Francais

UTILISATION PRÉVUE
Le HEMOCHRON® PDAO est conçu pour l'évaluation diagnostique in vitro de la réponse à la dose de protamine. Le test PDAO est conçu pour la vérification de la neutralisation de l'héparine à la fin d'interventions de chirurgie cardiovasculaire. Les dosages PDAO activés au kaolin peuvent également être utilisés pour des patients sous aprotinine. Le test HEMOCHRON PDAO doit être utilisé conformément aux conseils de procédure HEMOCHRON avec les modèles HEMOCHRON 401, 801, 8000 et Response.

Pour utilisation diagnostique *in vitro*

RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS
La dose de sulfate de protamine requise pour neutraliser l'héparine après une intervention de chirurgie cardiovasculaire est généralement basée sur le ratio protamine / quantité d'héparine d'héparine administrée pendant l'intervention,[1-3] ou sur le titrage de la protamine.[3-5] Il est donc nécessaire de déterminer avec précision la dose de protamine, au regard des complications connues associées à un excès ou à une insuffisance de protamine.[6-8]

Étant données les propriétés pharmacocinétiques de la protamine, il est important de quantifier et d'administrer le bon dosage de protamine pour neutraliser l'héparine circulante résiduelle.[9] Une dose trop faible peut entraîner des saignements liés à l'héparine et peut nécessiter un supplément de protamine pour inverser les effets de l'héparine.[8, 9] Une dose de protamine trop élevée, ce qui est plus courant, peut entraîner des saignements du fait des propriétés anticoagulantes de la protamine lorsqu'elle n'est pas liée à la molécule d'héparine.[9] L'administration d'un excès de protamine peut également provoquer une forte hypotension, un choc anaphylactique, une vasoconstriction pulmonaire et une décompensation cardiaque.[6-9]

L'objectif du titrage de la protamine est de déterminer le dosage exact de la protamine requis pour neutraliser complètement l'héparine circulante chez un patient donné. La neutralisation de l'héparine par la protamine in vitro a pour conséquence le retour à la normale du temps de coagulation, ce qui correspond aux effets in vivo de la protamine.[3, 5]

Test Protamine Dose Assay-O
Le PDAO permet d'effectuer facilement le titrage de la protamine à l'aide des principes in-vitro de neutralisation de l'héparine d'après la courbe dose-réponse et de vérification de la neutralisation de l'héparine.12 Le titrage effectué avec le test PDAO quantifie les milligrammes de protamine par millilitre de sang nécessaires pour neutraliser l'héparine résiduelle du patient et ramener le temps de coagulation activée (ACT) au niveau de référence avant héparinisation.

Le test PDAO est disponible avec les activateurs Celite® (terre de diatomées) ou kaolin. Le test PDAO activé à la Celite n'est pas destiné à être utilisé avec de l'aprotinine inhibitrice de protéase (Trasylol®, Bayer Corporation), qui peut être administrée pour réduire les saignements post-opératoires, notamment pendant une circulation extracorporelle, et peut prolonger l'effet du test PDAO activé à la Celite. Le kaolin n'est pas affecté par des doses modérées d'aprotinine. Le test PDAO activé au kaolin peut être utilisé comme alternative à l'évaluation de la réponse à l'héparine chez les patients sous aprotinine. Tout patient ayant subi une intervention chirurgicale doit être surveillé à l'aide de tests ACT et PDAO pour déterminer le besoin en protamine supplémentaire afin de compenser l'effet de l'héparine latente, qui peut provoquer une augmentation du taux d'héparine.[13]

Le test PDAO doit être réalisé en utilisant les modèles d'instrument de coagulation de sang total HEMOCHRON 401, 801, 8000 ou Response. Le PDAO contient les réactifs nécessaires pour effectuer un test ACT, ainsi qu'une quantité suffisante de sulfate de protamine pour identifier la présence d'héparine résiduelle et déterminer la dose appropriée (le cas échéant) pour la neutralisation.

En 1975, Bull et al.[5] ont publié la méthode de la courbe de réponse à la dose, basée sur le ACT,[11] permettant d'individualiser les dosages d'héparine et de protamine. En 1983, Dutton et al.4 ont décrit une méthode de titrage de la protamine utilisant le système HEMOCHRON 400. Dans cette méthode, différentes quantités de protamine liquide sont ajoutés à des échantillons de sang hépariné et le temps ACT est alors déterminé pour chaque échantillon. Les résultats du test ACT sont associés à ceux obtenus in vitro pour la concentration de protamine, ce qui constitue une courbe dose-réponse pour la neutralisation de l'héparine. La-concentration exacte de protamine nécessaire pour ramener le temps ACT à son niveau d'avant héparinisation peut alors être calculée grâce à cette courbe.

Le PDAO recourt au sang total du patient en association avec un temps ACT connu pour établir une courbe de titrage de la protamine pour chaque patient. La dose de protamine est calculée sur la base de ces temps de coagulation et-sur la volémie du patient. Ce calcul est effectué automatiquement par le système HEMOCHRON Response (version-2.0 ou supérieure) ou 8000, ou manuellement à l'aide de la feuille de calcul fournie.

RÉACTIFS
Les tubes de test HEMOCHRON PDAO sont conçus pour recueillir du sang total frais. Les tubes de test contiennent une préparation lyophilisée de sulfate de protamine avec activateur, stabilisants et tampons.

- Chaque tube à essais à bouchon orange PDAO contient du sulfate de protamine (0,01 mg), de la terre de diatomées, des stabilisants et des tampons.
- Chaque tube à essais à bouchon orange PDAOK contient du sulfate de protamine (0,01 mg), du kaolin, des stabilisants et des tampons.

STOCKAGE ET STABILITÉ
Les tubes de test HEMOCHRON PDAO doivent être stockés à température ambiante, contrôlée de manière à être comprise entre 15 et 30 °C. Les tubes PDAO sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Éviter d'exposer de manière prolongée les kits PDAO à des températures dépassant 30 °C.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION D'ÉCHANTILLONS
Matériels fournis
- Tube de test PDAO (bouchon orange ; activé à la Celite ou au kaolin, selon le cas).
- Feuille de calcul PDAO (pour les calculs manuels si nécessaire).

Matériels nécessaires
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 ou deux 401.
- Seringues non siliconées, non héparinées de 5 mL pour le prélèvement des échantillons sanguins.
- Aiguille droite 20G ou plus large pour le transfert de l'échantillon sanguin dans le tube de test.
- Tube de test ACT: FTCA510 (bouchon noir) ou FTK-ACT (bouchon doré), selon le cas.

ATTENTION : *TOUTES LES PRÉCAUTIONS DOIVENT ÊTRE PRISES POUR UTILISER LA TECHNIQUE DE MANIPULATION DES SERINGUES ADAPTÉE AFIN D'ÉVITER TOUTE BLESSURE ACCIDENTELLE.*

Pour le prélèvement, suivre la technique appropriée (A ou B):

A. Cathéter veineux ou artériel à demeure. Ne pas prélever de sang provenant d'un cathéter hépariné ou d'un verrou d'héparine à demeure.
   1. Interrompre le goutte-à-goutte, si nécessaire.
   2. À l'aide d'une technique à double seringue, aspirer deux seringues de 5 mL et jeter le premier prélèvement de 5 mL.

B. Raccord de ligne sanguine extracorporelle.
   1. Purger la ligne sanguine extracorporelle en aspirant et en jetant 5 mL de sang.
   2. Prélever 5 mL de sang total dans une seringue de 5 mL.

PROCÉDURE DE TEST
Si vous utilisez le système HEMOCHRON Response (version 2.0 ou supérieure) ou 8000, le logiciel du système quantifie la dose de protamine (le cas échéant) en fonction des résultats du test PDAO et des informations données par l'utilisateur, ainsi que des résultats du test ACT de référence. Si vous utilisez le système HEMOCHRON Response (versions inférieures à 2.0), 401 ou 801, reportez-vous à la feuille de calcul PDAO fournie avec le kit de test pour calculer la dose de protamine.

Si vous utilisez le test PDAO activé à la Celite, un tube ACT FTCA510 (bouchon noir) doit être employé. Si vous utilisez le test PDAO activé au kaolin, un tube FTK-ACT (bouchon doré) doit être employé.

Protocole recommandé
1. Cinq minutes après la première administration de protamine, effectuer simultanément un test ACT et un test PDAO. En utilisant la seringue de prélèvement, déposer exactement 2,0 mL de sang dans le tube de test PDAO. Appuyer simultanément sur le bouton START (DEPART) du puits de test HEMOCHRON correspondant.
2. Agiter immédiatement et vigoureusement le tube à essai dix fois.
3. Insérer le tube de test PDAO dans le puits de test approprié. Tourner rapidement le tube dans le sens des aiguilles d'une montre. Voir le manuel d'utilisation de l'instrument approprié pour plus d'informations.
4. En utilisant la seringue de prélèvement, déposer exactement 2,0 mL de sang dans le tube à essai ACT. Appuyer simultanément sur le bouton START (DEPART) du puits de test HEMOCHRON correspondant.
5. Agiter immédiatement et vigoureusement le tube à essai dix fois.
6. Insérer le tube de test ACT dans le puits de test HEMOCHRON approprié. Tourner rapidement le tube dans le sens des aiguilles d'une montre. Voir le manuel d'utilisation de l'instrument approprié pour plus d'informations.
7. Au signal sonore, enregistrer le résultat du test.
8. Déterminer la dose de protamine à administrer. Voir le paragraphe Calcul des doses ci-dessous.

Calcul des doses
Si vous utilisez le système HEMOCHRON Response (version 2.0 ou supérieure), consultez le manuel d'utilisation RxDx du système HEMOCHRON Response pour obtenir les instructions détaillées quant à l'utilisation du système de calcul automatique. Si vous utilisez le système HEMOCHRON 8000, suivez les instructions du présent manuel d'utilisation. Si vous utilisez le système HEMOCHRON Response (versions inférieures à 2.0), HEMOCHRON 401 ou 801, suivez les instructions de la feuille de calcul PDAO fournie avec ce kit pour calculer la dose de protamine. Vérification de la neutralisation de l'héparine

Vérification de la neutralisation de l'héparine
L'héparine résiduelle est signalée par un résultat du test ACT supérieur de plus de 10 % au résultat du test PDAO effectué en même temps. Inversement, un résultat du test PDAO supérieur au temps ACT correspondant est le signe d'une neutralisation complète de l'héparine circulante.

AVERTISSEMENTS LIÉS À L'UTILISATION DU PRODUIT
REMARQUE: *Observer les précautions d'usage à tout moment.*

1. L'échantillon de sang doit être transféré à l'aide d'une aiguille de transfert adaptée pour percer le septum.
2. Toujours utiliser une technique à deux mains pour transférer le sang. Une main tient fermement le tube pendant que la seconde main dépose l'échantillon de sang.
3. Les tubes à essai PDAO sont en verre. S'ils sont mal manipulés, ils peuvent se briser ou se fissurer. Ne pas faire tomber ou lancer les tubes.
4. Les tubes à essai PDAO contiennent un activateur de particule (Celite® ou kaolin) ainsi que du matériel d'origine biologique (sulfate de protamine). Ne pas manipuler, pulvériser ou ingérer ce matériel.
5. Tous les tubes à essai utilisés et contenant du sang d'origine humaine doivent être jetés dans des conteneurs agréés pour l'élimination des déchets présentant un risque biologique.
6. Ne pas retirer les bouchons pour refouler l'échantillon de sang dans le tube à essai.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE
En laboratoire et lors des études cliniques, le test PDA a permis de détecter l'héparine résiduelle au-delà de 0,25-unités/ml et de quantifier les minidoses de protamine complémentaires (à partir de 25 mg) nécessaires pour obtenir une neutralisation complète de l'héparine.12

Précision
La reproductibilité a été déterminée via le contrôle qualité HEMOCHRON pour le test PDAO.

	Niveau 1				Niveau 2			
PDAO	**Jour 1**	**Jour 2**	**Jour 3**	**Combiné**	**Jour 1**	**Jour 2**	**Jour 3**	**Combiné**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Moyenne	126	126	121	124	331	330	345	335
ET	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
% CV	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Moyenne	122	134	126	128	391	405	403	399
ET	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
% CV	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

LIMITES DE LA PROCÉDURE
1. Le test PDAO est affecté par l'emploi d'une mauvaise technique dans la procédure de test. Le mélange adéquat des échantillons/réactifs est indispensable pour obtenir des dosages précis et exacts.
2. La précision de la prévision de la dose de protamine dépend de la précision avec laquelle la volémie du patient a été calculée. Dans certains cas, les variations de volémie pendant l'intervention chirurgicale peuvent être considérables en raison de l'administration excessive de fluide en intraveineuse, de pertes urinaires, de pertes sanguines et de la transfusion de composants sanguins. Comme avec tout médicament administré par perfusion, l'utilisateur doit être conscient de ces modifications en raison de leurs effets potentiels sur l'efficacité de l'administration de protamine.
3. L'utilisation d'héparine supplémentaire ou de produits sanguins héparinés (par exemple, des globules rouges récupérés à partir du système de circulation extracorporelle) après un dosage PDAO rend caducs les résultats du test et la prévision de protamine. Dans ce cas, le dosage PDAO doit être recommencé pour refléter les besoins en protamine supplémentaire.
4. Seuls des tubes PDAO activés au kaolin doivent être utilisés chez les patients sous aprotinine. Aucune étude n'a été réalisée en utilisant d'autres agents antifibrinolytiques.
5. Le test PDAO n'est pas conçu pour être utilisé lorsque le temps ACT dépasse 300 secondes.
6. Les résultats des tests qui ne correspondent pas aux valeurs escomptées doivent être vérifiés puis évalués par d'autres moyens diagnostiques.

CONTRÔLE QUALITÉ (CQ)
Les tests et le suivi du contrôle qualité de routine doivent être intégrés à un programme d'assurance qualité complet. Il existe des produits de contrôle qualité du système de coagulation de sang total HEMOCHRON qui facilitent le CQ de routine et le rendent abordable.

CQ quotidien de l'instrument
Au minimum, la qualité de tous les instruments HEMOCHRON doit être contrôlée aux deux niveaux de performance, y compris les plages normale et anormale, toutes les 8 heures d'utilisation.

Pour faciliter la réalisation du CQ journalier, il existe des tubes de vérification du système électronique qui fournissent de multiples vérifications du contrôle qualité à différents niveaux (normal et anormal) sur l'instrument. Un tube de vérification de a température est également fourni. On l'utilise tous les 6 mois pour vérifier que l'instrument maintient la température appropriée de 37°C ± 1°C. Toute erreur décelée dans le système de contrôles de la température est affichée aussi à l'écran de l'afficheur LCD par l'instrument..

CQ DES TUBES À ESSAI HEMOCHRON
Chaque boîte de tubes à essai HEMOCHRON doit être validée au moins une fois avant utilisation. Ceci peut être réalisé en utilisant le produit liquide de contrôle qualité HEMOCHRON approprié. Les plages de valeurs acceptables pour les caractéristiques de performance des tubes à essai sont incluses dans le kit de produits de contrôle qualité HEMOCHRON. Après avoir vérifié chaque boîte de tubes à essai, compléter le tableau « Performance Verified » (Performance vérifiée) situé sur le côté de chaque boîte. Cette boîte est désormais «-IN CONTROL » (Contrôlée) et-il n'est pas nécessaire d'effectuer d'autres contrôles sauf s'il apparaît un décalage dans les résultats cliniques-obtenus.

REMARQUE : *Si plusieurs boîtes sont reçues lors du même envoi, il est recommandé de valider chaque boîte avant utilisation.*

RÉFÉRENCES

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Test della dose di protamina
Protamine Dose Assay (PDAO)

Foglietto illustrativo
Italiano

USO PREVISTO
HEMOCHRON® PDAO è studiata per la determinazione diagnostica in vitro della dose di protamina. PDAO è prevista per l'utilizzo nella verifica della neutralizzazione dell'eparina al completamento di un intervento chirurgico cardiovascolare. È possibile inoltre utilizzare l'analisi PDAO attivata con caolino per i pazienti sottoposti a somministrazione di aprotinina. La HEMOCHRON PDAO deve essere utilizzata seguendo le linee guida procedurali HEMOCHRON stabilite per i modelli HEMOCHRON 401, 801, 8000 e Response.

Per uso diagnostico *in vitro*

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE
La dose di solfato di protamina necessaria per neutralizzare l'eparina in seguito a un intervento chirurgico cardiovascolare si basa generalmente sul rapporto tra protamina e quantità di eparina somministrata durante l'intervento[1-3] oppure sulla titolazione della protamina.[3-5] La determinazione precisa della dose di protamina è vantaggiosa in vista delle note complicanze associate a una quantità eccessiva o insufficiente di protamina.[6-8]

A causa delle proprietà farmacocinetiche della protamina, è importante quantificare e somministrare il dosaggio di protamina corretto necessario per neutralizzare l'eparina residua in circolazione.[9] Una dose troppo bassa può provocare un'emorragia dovuta all'eparina e potrebbe richiedere un'ulteriore somministrazione di protamina per invertire completamente l'effetto dell'eparina.[8, 9] Una dose di protamina troppo elevata, possibilità più comune, può causare un'emorragia dovuta alle proprietà anticoagulanti della protamina quando non è legata a una molecola di eparina.[9] L'infusione di una dose eccessiva di protamina può causare inoltre una grave ipotensione, shock anafilattico, vasocostrizione polmonare e scompenso cardiaco.[6-9]

Lo scopo della titolazione di protamina è determinare il dosaggio di protamina esatto richiesto per neutralizzare completamente l'eparina in circolazione in qualsiasi paziente. La neutralizzazione dell'eparina da parte della protamina in vitro porta a una normalizzazione del tempo di coagulazione in modo che si colleghi agli effetti in vivo del farmaco.[3, 5]

Protamine Dose Assay-O
PDAO fornisce un metodo comodo per la titolazione della protamina utilizzando i principi della neutralizzazione dell'eparina in vitro e della verifica della neutralizzazione dell'eparina.[12] L'analisi della titolazione eseguita utilizzando PDAO quantifica i milligrammi di protamina per millimetro di sangue del paziente necessari per neutralizzare l'eparina residua nel paziente e riportare le tempo di coagulazione attivato (ACT) ai valori di riferimento prima della somministrazione di eparina.

L'analisi PDAO è disponibile con gli attivatori Celite® (farina fossile) o caolino. L'analisi PDAO attivata con Celite non è prevista per l'uso con gli inibitori della proteasi, quali l'aprotinina (Trasylol®, Bayer Corporation), che potrebbero essere somministrati per diminuire le emorragie postoperatorie, soprattutto nel caso di chirurgia con bypass cardiopolmonare, e possono prolungare PDAO attivato mediante Celite. Dosi moderate di aprotinina non influiscono sul caolino. La PDAO attivata con caolino può essere utilizzata come alternativa alla valutazione della risposta alla dose di protamina nei pazienti sottoposti a somministrazione di aprotinina. Il paziente in fase post operatoria deve essere monitorato mediante l'esecuzione di analisi ACT e PDAO per determinare la necessità di somministrare una dose aggiuntiva di protamina per compensare l'effetto latente dell'eparina, che potrebbe causare un rimbalzo di eparina.[13]

L'analisi PDAO viene eseguita utilizzando lo strumento per la coagulazione del sangue intero HEMOCHRON modelli 401, 801, 8000 o Response. PDAO contiene i reagenti necessari per eseguire un'analisi ACT più una quantità adeguata di solfato di protamina per identificare la presenza di eparina residua e determinare una dose opportuna per la neutralizzazione (se necessaria).

Nel 1975, Bull et al.[5] ha pubblicato il metodo della curva di risposta alla dose, basato sull'analisi del ACT,[11] per personalizzare i dosaggi di eparina e protamina. Nel 1983, Dutton et al.[4] ha descritto un metodo di titolazione della protamina utilizzando il sistema HEMOCHRON 400. In questo metodo, si aggiungono quantità variabili di protamina liquida ai campioni di sangue eparinizzato del paziente e si determina l'ACT per ogni campione. I risultati ACT tracciati rispetto alla concentrazione di protamina in vitro creano una curva di neutralizzazione dell'eparina. La concentrazione di protamina esatta necessaria per riportare l'ACT ai livelli prima dell'eparinizzazione può essere calcolata a partire da questa curva.

PDAO utilizza il sangue intero del paziente unitamente all'ACT di stato per costruire una curva di titolazione della protamina personalizzata. La dose di protamina è calcolata in base a questi tempi di coagulazione e al volume del sangue del paziente. È possibile calcolarla automaticamente utilizzando HEMOCHRON Response (software versione 2.0 o successiva) o 8000, oppure manualmente utilizzando il foglio di lavoro fornito.

REAGENTI
Le provette per l'analisi HEMOCHRON PDAO sono previste per l'uso con sangue intero fresco. Le provette per l'analisi contengono un preparato liofilizzato di solfato di protamina con attivatore, stabilizzatori e tamponi aggiunti

- Ciascuna provetta PDAO (parte superiore arancione) contiene solfato di protamina (0,01mg), farina fossile, stabilizzatori e tamponi
- Ciascuna provetta PDAOK (parte superiore arancione) contiene solfato di protamina (0,01mg), caolino, stabilizzatori e tamponi

CONSERVAZIONE E STABILITÀ
Le provette per l'analisi HEMOCHRON PDAO devono essere conservate a una temperatura ambiente controllata (15°–30 °C). Le provette PDAO sono stabili fino alla data di scadenza indicata. Evitare l'esposizione prolungata dei kit PDAO a temperature superiori a 30 °C.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI
Materiale fornito
- Provetta per analisi PDAO (tappo arancione; attivata con Celite o caolino come opportuno).
- Foglio di lavoro PDAO (per i calcoli manuali se necessario).

Materiale necessario
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 o due 401.
- Siringhe da 5 mL non siliconizzate e non eparinizzate per la raccolta di sangue.
- Ago diritto calibro n. 20 o superiore per il trasferimento del campione di sangue nella provetta per analisi.
- Provetta per analisi ACT, FTCA510 (tappo nero) o FTK-ACT (tappo dorato), come opportuno.

ATTENZIONE: *occorre prendere tutte le precauzioni per utilizzare la tecnica corretta con le siringhe al fine di evitare punture accidentali.*

Per la raccolta del sangue, seguire la tecnica opportuna (A, o B):

A. Linea di sangue venoso o arterioso a permanenza. (Non prelevare il sangue da una linea di accesso eparinizzata o un blocco di eparina a permanenza)
   1. Se necessario, interrompere la somministrazione di fluidi goccia a goccia.
   2. Se si utilizza una tecnica a due siringhe, utilizzare due siringhe da 5 mL ed eliminare la prima siringa.

B. Porta linea di sangue extracorporea.
   1. Sciacquare la linea di accesso del sangue extracorporeo prelevando ed eliminando 5 mL di sangue.
   2. Prelevare 5 mL di sangue intero in una siringa da 5 mL.

PROCEDURA DI ANALISI
Se si utilizza HEMOCHRON Response (software versione 2.0 o successiva) o 8000, il software del sistema quantificherà la dose di protamina (se necessaria) in base ai risultati dell'analisi PDAO e alle informazioni fornite dall'operatore, nonché ai risultati ACT di stato. Se si utilizza HEMOCHRON Response (versioni del software precedenti a 2.0), 401 o 801, utilizzare il foglio di calcolo PDAO fornito con il kit per analisi per calcolare la dose di protamina.

Se si utilizzano le analisi PDAO attivate con Celite, occorre utilizzare una provetta FTCA510 (tappo nero) ACT. Se si utilizzano le analisi PDAO attivate con caolino, occorre utilizzare una provetta FTK-ACT (tappo dorato).

Protocollo consigliato
1. Cinque minuti dopo l'infusione iniziale di protamina, eseguire contemporaneamente un'analisi ACT di stato e PDAO. Versare esattamente 2 mL di sangue dalla siringa di raccolta nella provetta per l'analisi PDAO. Premere contemporaneamente il tasto **START** (AVVIO) del pozzetto di analisi HEMOCHRON opportuno.
2. Agitare immediatamente e vigorosamente la provetta per analisi per dieci volte con movimento a 180°.
3. Inserire la provetta per analisi PDAO nel pozzetto di analisi opportuno. Ruotare velocemente la provetta in senso orario. Per ulteriore informazioni, consultare il Manuale per l'operatore dello strumento opportuno.
4. Versare esattamente 2,0 mL di sangue dalla stessa siringa di raccolta nella provetta ACT. Premere contemporaneamente il tasto **START** (AVVIO) del pozzetto di analisi HEMOCHRON opportuno.
5. Agitare immediatamente e vigorosamente la provetta per analisi per dieci volte con movimento a 180°.
6. Inserire la provetta ACT nel pozzetto di analisi HEMOCHRON opportuno. Ruotare velocemente la provetta in senso orario. Per ulteriore informazioni, consultare il Manuale per l'operatore dello strumento opportuno.
7. Al suono dell'indicatore, registrare il risultato dell'analisi.
8. Determinare la dose di infusione di protamina. Vedere Calcoli della dose di seguito.

Calcoli della dose
Se si utilizza HEMOCHRON Response (software versione 2.0 o successiva), consultare il manuale dell'operatore RxDx HEMOCHRON Response per le istruzioni dettagliate sull'utilizzo del sistema di calcolo automatico. Se si utilizza HEMOCHRON 8000, seguire le istruzioni nel manuale dell'operatore di questo strumento. Se si utilizza HEMOCHRON Response con le versioni del software precedenti a 2.0, HEMOCHRON 401 o 801, seguire le istruzioni sul foglio di lavoro PDAO fornito con il kit per analisi per calcolare la dose di protamina.

Verifica della neutralizzazione dell'eparina
L'eparina residua è indicata da un risultato ACT maggiore di oltre il 10 % rispetto al risultato PDAO corrispondente. Un risultato PDAO superiore rispetto all'ACT corrispondente indica una completa neutralizzazione dell'eparina in circolazione.

AVVERTENZE SULL'UTILIZZO DEL PRODOTTO
NOTA: *Osservare sempre le precauzioni universali.*

1. Occorre trasferire i campioni di sangue utilizzando un ago di trasferimento opportuno per bucare la chiusura.
2. Utilizzare sempre la tecnica a due mani per trasferire il sangue. Con una mano tenere saldamente la provetta e con la seconda versare il campione di sangue dalla siringa.
3. Le provette per analisi PDAO sono di vetro. Se maneggiate in modo errato, possono rompersi o incrinarsi. Non fare cadere né tirare le provette.
4. Le provette per analisi PDAO contengono un attivatore di particolato (Celite® o caolino) e un materiale di origine biologica (solfato di protamina). Non manipolare il materiale, inalarlo o ingerirlo.
5. Tutte le provette per analisi contenenti sangue di derivazione umana devono essere eliminate in contenitori a rischio biologico approvati.
6. Non togliere i tappi per introdurre un campione di sangue nella provetta.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI
Studi clinici e di laboratori hanno dimostrato che il PDAO rilevi l'eparina residua oltre le 0,25 unità/ml e quantifichi le minidosi aggiuntive di protamina (25 mg) necessarie per ottenere una neutralizzazione completa dell'eparina.12

Precisione
La riproducibilità è stata determinata utilizzando il controllo della qualità HEMOCHRON per PDAO.

	Livello 1				Livello 2			
PDAO	**Giorno 1**	**Giorno 2**	**Giorno 3**	**Combinato**	**Giorno 1**	**Giorno 2**	**Giorno 3**	**Combinato**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Media	126	126	121	124	331	330	345	335
Dev. std	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Media	122	134	126	128	391	405	403	399
Dev. std	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA
1. L'analisi PDAO è condizionata da una tecnica inadeguata nella procedura di analisi. Per un'analisi precisa e accurata è necessaria una miscela corretta di reagente/campione.
2. La precisione della previsione della dose di protamina dipende dalla precisione del volume del sangue calcolato del paziente. In alcuni casi, modifiche del volume del sangue durante l'intervento chirurgico possono essere notevoli a causa dell'infusione di fluido intravenoso, perdita urinaria, emorragie e trasfusioni di componenti del sangue. Come per l'infusione di altri medicinali, l'operatore deve essere consapevole di queste alterazioni, a causa dei loro potenziali effetti sull'efficacia dell'infusione di protamina.
3. L'utilizzo di una quantità aggiuntiva di eparina o di prodotti sanguigni eparinizzati (ossia, globuli rossi recuperati dal sistema extracorporeo) in seguito all'esecuzione dell'analisi PDAO renderà negativi i risultati dell'analisi

e la previsione di protamina. In questo caso, occorre ripetere l'analisi PDAO per riflettere le necessità di protamina aggiuntiva.

4. È possibile utilizzare solo le provette PDAO attivate con caolino per i pazienti a cui è somministrata l'aprotinina. Non sono stati eseguiti studi utilizzando altri agenti antifibrinolitici.
5. L'analisi PDAO non è prevista per l'uso con un ACT superiore a 300 secondi.
6. I risultati dell'analisi non conformi ai valori attesi devono essere verificati e quindi valutati con metodi diagnostici alternativi.

CONTROLLO DELLA QUALITÀ (CQ)
Le procedure di analisi e registrazione del controllo della qualità ordinario devono essere parte di un programma di garanzia della qualità completo. I prodotti per il controllo della qualità del sistema di coagulazione sangue intero HEMOCHRON sono disponibili per eseguire controlli della qualità ordinari agevoli e a prezzi convenienti.

CQ giornaliero dello strumento
La qualità di tutti gli strumenti HEMOCHRON deve essere controllata a due livelli di prestazione una volta ogni 8 ore di funzionamento.

Per eseguire il controllo della qualità quotidiano, sono disponibili provette per la verifica elettronica del sistema che consentono verifiche del controllo della qualità dello strumento a livelli multipli (normale e anormale). È fornita anche una provetta per la verifica della temperatura, da utilizzare una volta ogni 6 mesi, per accertare che lo strumento mantenga la temperatura corretta di 37 °C ± 1 °C. Eventuali errori riscontrati nel sistema di controllo della temperatura saranno visualizzati dallo strumento sullo schermo LCD.

CQ delle provette per analisi HEMOCHRON
Ogni scatola di provette per analisi HEMOCHRON deve essere convalidata almeno una volta prima dell'utilizzo.

Questa operazione va eseguita utilizzando l'apposito mezzo liquido Hemochron di controllo della qualità. I valori di prestazione accettabili per le provette sono inclusi con ogni kit di prodotto di controllo qualità HEMOCHRON. Dopo aver verificato ogni singola scatola di provette, occorre compilare la tabella "Performance Verified" (Prestazione verificata) collocata sul lato della scatola. La scatola è ora "IN CONTROL" (SOTTO CONTROLLO) e non richiederà ulteriori controlli della qualità dei liquidi, eccetto in caso di modifica dei risultati clinici.

NOTA: *qualora si ricevessero scatole multiple all'interno della stessa spedizione, si consiglia di convalidare ogni singola scatola prima dell'utilizzo.*

RIFERIMENTI

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.

HEMOCHRON®
Whole Blood Coagulation Systems

Teste da Dose de Protamina
Protamine Dose Assay (PDAO)

Folheto Informativo
Português

FIM A QUE SE DESTINA
O HEMOCHRON® PDAO foi concebido para determinar a dose de protamina no diagnóstico in vitro. O PDAO deve ser utilizado na verificação da neutralização da heparina no final da cirurgia cardiovascular. O teste PDAO activado por caulino pode também ser utilizado em doentes que estão a ser tratados com aprotinina. O HEMOCHRON PDAO deve ser utilizado com directivas processuais HEMOCHRON estabelecidas para o HEMOCHRON com os modelos 401, 801, 8000 e Response.

Para Utilização em Diagnóstico *in vitro*

RESUMO E EXPLICAÇÃO
A dose de sulfato de protamina necessária para neutralizar a heparina após a cirurgia cardiovascular baseia-se, normalmente, na relação da protamina com a quantidade de heparina administrada como infusão durante o procedimento[1-3] ou com base na análise volumétrica da protamina.[3-5] A determinação precisa da dose de protamina é vantajosa tendo em conta as complicações conhecidas associadas ao excesso ou à insuficiência de protamina.[6-8]

Devido à farmacocinética da protamina, é importante quantificar e administrar a dosagem de protamina correcta necessária para neutralizar a heparina residual em circulação.[9] Uma dose demasiado baixa pode resultar em hemorragia relacionada com a heparina e pode ser necessário administrar uma infusão de protamina suplementar para inverter totalmente o efeito da heparina.[8, 9] Uma dose demasiado elevada de protamina, uma ocorrência mais frequente, pode resultar em hemorragia devido às propriedades anticoagulantes da protamina quando não está ligada à molécula da heparina.[9] Uma infusão de protamina em excesso pode igualmente resultar em hipotensão grave, choque anafilático, vasoconstrição pulmonar e descompensação cardíaca.[6-9]

A finalidade da análise volumétrica é para determinar a dosagem de protamina exacta necessária para neutralizar totalmente a heparina em circulação em qualquer doente. A neutralização da heparina pela protamina in vitro resulta na normalização do tempo de coagulação de tal forma que se correlacione com os efeitos in vivo do fármaco.[3, 5]

Teste-O da Dose de Protamina
O PDAO é um método conveniente de análise volumétrica da protamina utilizando os princípios da neutralização da heparina em resposta à dose in vitro e da verificação da neutralização.[12] A análise volumétrica realizada utilizando o PDAO quantifica os miligramas de protamina por mililitro de sangue necessário do doente para neutralizar a carga residual de heparina do doente e voltar a colocar o valor do Tempo de Coagulação Activado (ACT) num valor de linha de base pré-heparinizado.

O teste PDAO encontra-se disponível com activadores Celite® (terra de diatomáceas) ou caulino. O teste PDAO activado por Celite não se destina a ser utilizado com a aprotinina inibidora da protease (Trasylol®, Bayer Corporation), que pode ser administrada para reduzir a hemorragia pós-operatória, especialmente durante a cirurgia de bypass cardiopulmonar, e pode prolongar o PDAO activado por Celite. O caulino não é afectado por doses moderadas de aprotinina. O PDAO activado por caulino pode ser utilizado como alternativa à avaliação da resposta à dose de protamina em doentes que estão a ser tratados com aprotinina. O doente pós-cirúrgico deve ser monitorizado com o ACT e o PDAO para determinar a necessidade de se administrar uma infusão adicional de protamina para compensar o efeito de heparina latente, o que pode, possivelmente, resultar em recuo da heparina.[13]

O teste PDAO é realizado com o HEMOCHRON de Coagulação de Sangue Total, modelos 401, 801, 8000 ou Response. O PDAO contém os reagentes necessários à realização de um teste ACT além de uma quantidade apropriada de sulfato de protamina para identificar a presença da heparina residual e determinar uma dose apropriada (se existir) para a neutralização.

Em 1975, Bull et al.[5] publicou e tornou conhecido o método de curva de resposta à dose com base no ACT para individualizar as dosagens de heparina e de protamina. Em 1983, Dutton et al.[4] descreveu um método para a análise volumétrica da protamina utilizando o sistema HEMOCHRON 400. Neste método, são adicionadas quantidades variáveis de protamina líquida às amostras do sangue heparinizado do doente e o ACT é determinado para cada amostra. Os resultados do ACT traçados em relação à concentração de heparina in vitro constituem uma curva de neutralização da heparina em resposta à dose. A concentração exacta de protamina necessária para normalizar o ACT ao seu nível antes da heparinização pode ser calculada a partir dessa curva.

O PDAO utiliza sangue total do doente juntamente com um ACT de estado para construir uma curva de análise volumétrica individualizada da protamina. A dose de protamina é calculada com base nestes tempos de coagulação e volume de sangue do doente.[9] Isto pode ser calculado automaticamente pelo HEMOCHRON Response (versão 2.0 do software, ou superior)-ou 8000, ou manualmente utilizando a folha de trabalho fornecida.

REAGENTES
Os tubos de ensaio HEMOCHRON PDAO destinam-se a ser utilizados com sangue total fresco. Os tubos de ensaio contêm uma preparação liofilizada de sulfato de protamina adicionada de activador, estabilizadores e soluções tampões.

- Cada tubo (parte superior cor-de-laranja) PDAO contém sulfato de protamina (0,01 mg), terra de diatomáceas, estabilizadores e soluções tampão.
- Cada tubo (parte superior cor-de-laranja) PDAOK contém sulfato de protamina (0,01 mg), caulino, estabilizadores e soluções tampão.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE
Os tubos de ensaio HEMOCHRON PDAO devem ser armazenados a uma temperatura ambiente controlada (15 – 30° C). Os tubos PDAO são estáveis até à data de validade indicada. Evite a exposição prolongada dos kits PDAO a temperaturas que excedam os 30° C.

COLHEITA DAS AMOSTRAS E MANUSEAMENTO
Materiais Fornecidos
- Tubo de ensaio PDAO (parte superior cor-de-laranja; activado por Celite ou caulino, conforme for apropriado).
- Folha de trabalho PDAO (para cálculos manuais, se necessário).

Materiais Necessários
- HEMOCHRON Response, 8000, 801 ou dois 401s.
- Seringas de 5 ml não-siliconizadas, não-heparinizadas para a colheita de sangue.
- Indicador #20 ou agulha direita maior para a transferência da amostra de sangue para o tubo de ensaio.
- Tubo de ensaio ACT, FTCA510 (topo preto) ou FTK-ACT (topo dourado), conforme for apropriado.

PRECAUÇÃO: *Devem tomar-se todas as precauções para se utilizar a técnica adequada com seringas para evitar picadas acidentais.*

Para a colheita de sangue, utilize a técnica apropriada (A ou B):

A. Linha interior de sangue venoso ou arterial. (Não obtenha sangue numa linha de acesso heparinizada nem a partir de um bloqueio interior de heparina).
   1. Acabe com as fugas de fluido, se for necessário.
   2. Utilizando uma técnica de duas seringas, extraia duas seringas de 5 ml e elimine a primeira seringa.

B. Porta 1 da linha de sangue extracorporal.
   1. Lave a linha de acesso de sangue extracorporal extraindo e removendo 5 ml de sangue.
   2. Extraia 5 ml de sangue total com uma seringa de 5 ml.

PROCEDIMENTO DE TESTE
Se estiver a utilizar o HEMOCHRON Response (versão 2.0 do software ou superior) ou o 8000, o software do sistema irá quantificar a dose de protamina (se existir) com base no resultado do teste PDAO e nas informações fornecidas pelo utilizador, juntamente com os resultados do ACT de estado. Se estiver a utilizar o HEMOCHRON Response (versões de software inferiores à 2.0), o 401 ou 801, utilize a folha de trabalho de cálculo PDAO fornecida com o kit de teste para calcular a dose de protamina.

Se estiver a utilizar os testes PDAO activados por Celite, deve utilizar um ACT FTCA510 (topo preto). Se estiver a utilizar o PDAO activado por caulino, deve utilizar um FTK-ACT (topo dourado).

Protocolo Recomendado
1. Cinco minutos após a infusão inicial de protamina, realize simultaneamente um ACT de estado e um PDAO. Utilizando a seringa da colheita, aplique exactamente 2 ml de sangue dentro do tubo de ensaio PDAO. Ao mesmo tempo, prima o botão **START** da cavidade de teste HEMOCHRON apropriada.
2. Agite imediatamente o tubo de ensaio vigorosamente, invertendo-o dez vezes.
3. Insira o tubo de ensaio PDAO na cavidade de teste apropriada. Rode o tubo rapidamente no sentido dos ponteiros do relógio. Consulte o manual do operador do instrumento apropriado para obter informações adicionais.
4. Utilizando a seringa da colheita, aplique exactamente 2,0 ml de sangue dentro do tubo ACT. Ao mesmo tempo, prima o botão START da cavidade de teste HEMOCHRON apropriada.
5. Agite imediatamente o tubo de ensaio vigorosamente, invertendo-o dez vezes.
6. Insira o tubo de ensaio ACT na cavidade de teste do HEMOCHRON apropriada. Rode o tubo rapidamente no sentido dos ponteiros do relógio. Consulte o manual do operador do instrumento apropriado para obter informações adicionais.
7. Ao som do indicador, registe o resultado do teste.
8. Determine a dose da infusão de protamina. Consulte Cálculos da Dose abaixo.

Cálculos da Dose
Se estiver a utilizar o HEMOCHRON Response (versão 2.0 do software ou superior), consulte o Manual do Operador do HEMOCHRON Response RxDx para obter instruções detalhadas sobre a utilização deste sistema de cálculo automático. Se estiver a utilizar o HEMOCHRON 8000, siga as instruções no manual do operador deste instrumento. Se estiver a utilizar o HEMOCHRON Response com versões de software inferiores à 2.0, à do HEMOCHRON 401 ou 801, siga as instruções sobre a folha de trabalho PDAO fornecida neste kit para calcular a dose de protamina.

Verificação da neutralização da heparina
A heparina residual é indicada por um resultado ACT superior em mais de 10 % ao resultado do PDAO concomitante. Um resultado PDAO superior ao ACT correspondente, também indica a neutralização completa da heparina em circulação.

AVISOS SOBRE A UTILIZAÇÃO DO PRODUTO
NOTA: *Cumpra sempre as precauções universais.*

1. A amostra de sangue deve ser transferida utilizando uma agulha de transferência apropriada para perfurar a tampa.
2. Utilize sempre uma técnica de duas mãos para transferir o sangue. Uma das mãos prende o tubo com segurança, enquanto a outra transfere a amostra de sangue da seringa.
3. Os tubos de ensaio PDAO são de vidro. Podem partir ou rachar facilmente se forem manuseados de forma indevida. Não deixe cair nem arremesse os tubos.
4. Os tubos de ensaio PDAO contêm um activador de partículas (Celite® ou caulino) bem como um material de origem biológica (sulfato de protamina). Não manuseie o material, não o dissemine por aerossol nem ingira.
5. Todos os tubos de ensaio usados que contenham sangue humano devem ser eliminados em recipientes apropriados para materiais que apresentem risco biológico.
6. Não retirar os tampões para colocar uma amostra de sangue no tubo.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
O PDAO demonstrou em estudos clínicos e laboratoriais conseguir detectar a heparina residual acima das 0,25 unidades/ml e quantificar mini-doses adicionais de protamina (tão baixas quanto 25 mg) necessárias para obter a neutralização completa da heparina.[12]

Precisão
A reprodutibilidade foi determinada utilizando o Controlo de Qualidade HEMOCHRON para PDAO.

	Nível 1				Nível 2			
PDAO	**Dia 1**	**Dia 2**	**Dia 3**	**Combinados**	**Dia 1**	**Dia 2**	**Dia 3**	**Combinados**
N	3	3	3	9	3	3	3	9
Média	126	126	121	124	331	330	345	335
Desv. padrão	3,5	3,1	3,2	3,6	0	4,0	13,2	10,0
CV %	2,7	2,4	2,6	2,9	0	1,2	3,8	3,0
PDAOK								
N	5	5	4	14	5	5	4	14
Média	122	134	126	128	391	405	403	399
Desv. padrão	9,7	3,9	10,6	9,4	13,3	13,9	15,7	14,6
CV %	7,9	2,9	8,4	7,4	3,4	3,4	3,9	3,7

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO
1. O teste PDAO é afectado pela utilização de uma técnica deficiente no procedimento de teste. É necessária uma mistura de amostra/reagente adequada para se obterem testes precisos e exactos.
2. A precisão da previsão da dose de protamina depende da precisão do volume de sangue calculado do doente. Nalguns casos, as alterações de volume de sangue durante a cirurgia podem ser dramáticas devido à infusão excessiva de fluido intravenoso, à perda urinária, à perda de sangue e à transfusão de componente de sangue. Tal como acontece com qualquer medicação administrada por infusão, o utilizador tem que estar ciente destas alterações devido ao seu efeito potencial na eficácia da infusão de protamina.
3. A utilização de heparina adicional ou de produtos de sangue heparinizado (isto é, glóbulos vermelhos recuperados do sistema extracorporal) a seguir à realização de um PDAO irá negar os resultados do teste e a previsão de protamina. Neste caso, o teste PDAO deve ser repetido para reflectir os requisitos da protamina adicional.
4. Só devem ser utilizados tubos PDAO activados por caulino em doentes que estão a ser tratados com aprotinina. Não foram realizados estudos utilizando outros agentes anti-fibrinolíticos.
5. O teste PDAO não deve ser utilizado quando o ACT de estado excede os 300 segundos.
6. Os resultados dos testes que não estão de acordo com os valores esperados devem ser verificados e avaliados por métodos de diagnóstico alternativos.

CONTROLO DE QUALIDADE (CQ)
Os testes e o rastreio do controlo de qualidade de rotina devem fazer parte de um programa abrangente de garantia de qualidade. Os produtos de controlo de qualidade do Sistema de Coagulação de Sangue Total HEMOCHRON encontram-se disponíveis para tornarem o CQ de rotina mais conveniente e rentável.

CQ DIÁRIO DO INSTRUMENTO
Todos os instrumentos HEMOCHRON devem ter um controlo de qualidade a dois níveis de controlo, pelo menos uma vez de 8 em 8 horas de funcionamento. Para auxiliar no cumprimento do CQ diário, encontram-se disponíveis Tubos de Verificação do Sistema Electrónico para fornecerem verificações de controlo de qualidade de vários níveis (normal e anormal) do instrumento. Também é fornecido um Tubo de Verificação da Temperatura para utilizar de 6 em 6 meses para verificar se o instrumento está a manter a temperatura adequada de 37°C ± 1°C. Todos os erros encontrados no sistema de controlos da temperatura também serão visualizados no ecrã LCD pelo instrumento.

CQ dos Tubos de Ensaio HEMOCHRON
Cada caixa de tubos de ensaio HEMOCHRON deve ser validada pelo menos uma vez antes de ser utilizada. Isto será realizado utilizando o controlo de qualidade líquido HEMOCHRON apropriado. Os intervalos de desempenho aceitáveis para os tubos de ensaio estão incluídos no kit de produto de controlo de qualidade HEMOCHRON. Depois de cada uma das caixas de tubos de ensaio ter sido verificada, a tabela "Performance Verified" (Desempenho Verificado) fornecida na parte lateral de cada caixa de tubos de ensaio deve ser preenchida. Esta caixa encontra-se agora "IN CONTROL" (EM CONTROLO) e não irá necessitar de outros controlos de qualidade líquidos, a não ser que se observe um desvio nos resultados clínicos.

NOTA: *Se receber várias caixas na mesma remessa, recomendamos que valide cada caixa após a abertura, antes de a utilizar.*

BIBLIOGRAFIA

1. Friesen RH, Hydrick DR. Heparin reversal in children following cardiopulmonary bypass. J Extra-Corporeal Tech 18:95, 1986
2. Kersting J, Rush B. A simple individualized method for dose-responsive heparin and protamine administration. J Extra-Corporeal Tech 11:56, 1979
3. Rivard DC, Thompson SJ. Demonstration of heparin reversal with protamine administration using an automated protamine dose assay: A comparison of two methods. AMSECT Proceedings, March 11-14, 1988
4. Dutton DA, Hothersall AP, McLaren AD, Taylor KM, Turner MA. Protamine titration after cardiopulmonary bypass. Anaesthesia 38:264, 1983
5. Bull BS, Huse WM, Brauer FS, Korpman RA. Heparin therapy during extracorporeal circulation. II. The use of a dose-response curve to individualize heparin and protamine dosage. J Thorac Cardiovasc Surg 69:685, 1975
6. Fiser WP, Fewell JE, Hill DE, Barnes RW, Read RC. Cardiovascular effects of protamine sulfate are dependent on the presence and type of circulating heparin. J Thorac Cardiovasc Surg 89:63, 1985
7. Frater RWM, Oka Y, Hong Y, Tsubo T, Loubser PG, Masone R. Protamine induced circulatory changes. J Thorac Cardiovasc Surg 87: 687, 1984
8. Horrow JC. Protamine: A review of its toxicity. Anesth Analg 64:348, 1985
9. Jaques AS. Protamine-antagonist to heparin. Can Med Assoc J 108:1291, 1973
10. Bull BS, Korpman RA, Huse WM, Briggs BD. Heparin therapy during extracorporeal circulation. I. Problems inherent in existing heparin protocols. J Thorac Cardiovasc Surg 69:674, 1975
11. Hattersley PG. Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196:436, 1966
12. LaDuca FM, Zucker ML, Walker CE. Assessing heparin neutralization following cardiac surgery: Sensitivity of thrombin time-based assays versus protamine titration methods. Perfusion 14: 181-7, 1999.
13. Gollub S. Heparin rebound in open heart surgery. Surg Gynecol Obstet 124:337, 1967.